



## Рецензия

от доц. д-р Жана Крумова Ангарска, Катедра „Обща химия”, Факултет по природни науки, Шуменски университет „Епископ Константин Преславски”, член на Научното жури, назначено със заповед № РД38-209/19.05.2014 на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски”

**Относно:** дисертационния труд на тема *„Състав и реология на адсорбционни слоеве от смеси на протеини и ПАВ върху различни междуфазови граници”* на Румяна Добрева Станимирова за присъждане на **образователната и научна степен „Доктор”** по научна специалност 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление: 4.2 Химически науки (Теоретична химия)

Дисертационният труд е разработен в Катедрата по Инженерна химия към Факултета по Химия и Фармация на СУ „Св. Климент Охридски” под ръководството на чл.-кор. проф. д-р Красимир Данов, доц. д-р Кръстанка Маринова и акад. проф. д-р Петър Кралчевски, участвал като консултант.

### 1. Оценка на актуалността на темата

Актуалността на темата на дисертационния труд *„Състав и реология на адсорбционни слоеве от смеси на протеини и ПАВ върху различни междуфазови граници”* се определя от природата и комбинацията на изследваните обекти, модификацията и комбиниране на методите, използвани в изследването и количествения подход при интерпретация на получените резултати. Аргументацията ми за това се състои в долу даденото.

Ползата от ПАВ в редица производства е неуспорима, но и токсичността им е доказана. Това налага подборът им да се осъществява така, че вредното им действие да бъде многократно балансирано от полезното. През последните години производителите на здравословни храни, лекарства и ниско токсични детергентни смеси се насочват към използването на нетоксични и биоразграждащи се стабилизатори. Отдавна е известно, че такива са природните стабилизатори, получени от растения, гъби, ядки, зърна или физиологични течности, каквито са липопротеините, сапонините, белтъците и др. Реалното им използване обаче, не е рентабилно от икономическа гледна точка, защото те са скъпо струващи и трудно изолиращи се вещества. Намаляването на концентрацията на протеините, там където използването им е неизбежно, налага комбинирането им с други евтини и лесно синтезиращи се вещества, каквито са

нискомолекулните ПАВ. Следователно смесите от протеини или протеин и нискомолекулно повърхностно активно вещество са актуалните стабилизатори за храни, лекарства, хранителни добавки и пречистването и съхранението на биологично активни вещества. Огромният брой теоретични и експериментални изследвания на такива смеси (дадени и дискутирани в дисертацията) е още едно доказателство за тяхната актуалност. Правилният подбор на смес от протеин – протеин или протеин-ПАВ изисква детайлно познаване на конкурентната адсорбция на веществата на фазовата граница, както и реологичните свойства на образуваните от тях адсорбционни слоеве. В повечето от съществуващите изследвания резултатите са едностранчиви: отнасят се само за паралелна или последователна конкурентна адсорбция в монослой; получени са с един или най-много с два експериментални метода; не са корелирани с кинетичните и равновесни свойства на тънките филми, т.е няма мост за приложението им към пени и емулсии.

Темата на настоящия дисертационен труд е действително актуална, защото тя е насочена към едно детайлно количествено изследване на повърхностните и реологични свойства на адсорбционни слоеве от две много актуални смеси: първата, съдържаща двата, най-използвани в практиката, животински протеина – говежди серумен албумин (глобулярен протеин) и  $\beta$ -казеин (неструктуриран протеин) и втората, състояща се от протеина хидрофобин (HFBI) и нискомолекулното ПАВ - натриев додецил сулфат (SDS). Съставът на втората смес позволява да се провери един от търсените през последните години ефект – смесеният адсорбционен слой да притежават уникалните свойства на протеина, дори и той да е в много малко количество в сместа. Реализацията на темата в детайли е направено с комбинирането на няколко класически метода, но актуализирани през подходяща модификация. За успешното извличане на допълнителна и важна информация, от експерименталните данни, съществуващи теоретични подходи са успешно актуализирани и приложени към изследваните системи с протеини.

## **2. Структуриране на дисертационния труд**

Дисертационният труд е написан на 104 страници. Състои се от: увод; експериментални методи и използвани материали; три глави с резултати и дискусията им; основни приноси; списък на публикуваните по дисертацията материали и литература. Експерименталните и получените от тях данни са представени в 8 таблици и 45 фигури. Фигурите добре визуализират експерименталните данни. Допълнителната (графична или словесна) информация в тях улеснява дискусията им. Подробните надписи под фигурите спестяват многословните обяснения в текста. За мотивацията на целите, за анализ и съпоставка на експерименталните данни и дискусията им са използвани 120 литературни източника. Те са подредени по азбучен ред на фамилията на първия автор. Уводът е кратък и е представен на 13 стр. За илюстриране на съществени части от съдържането му са използвани 8 фигури. За всяка от трите глави с резултати (Глави 3, 4 и 5) има обособен модул, състоящ се от обект, цел на

изследването, протокол на експеримента, експериментални резултати с дискусията им и основни резултати от главата. Въведеният протокол на експеримента е положително нововъведение, което улеснява читателя.

Структурирането на дисертационния труд е логично, изложението в него е последователно и независимо че експерименталните данни са много и разнообразни те лесно се възприемат. Непосредствената дискусия след резултатите и изказването на изводите в края на всяка глава спомага за лесното им осмисляне.

### **3. Увод**

Уводът се състои от въведение и литературен обзор. Във въведението е акцентирано на три факта: *актуалността на протеините като стабилизатори; необходимостта им да се използват в смеси и значимостта на реологичното поведение на смесени протеинови слоеве за стабилността на пени и емулсии.* Чрез тях е изказана основната цел на дисертацията. Въведението завършва с кратко описание на съдържанието на експерименталните глави на дисертацията.

Структурирането на литературния обзор е направено според целите на експерименталните задачи и се състои от три части. Първата му част съдържа информация, нужна за мотивацията на изследването на сместа от двата белтъка. Анализирани са експерименталните данни за смеси от белтъци, в това число и с йонни и нейонни ПАВ, получени с методите: DSA (с две модификации - за замяна на водната фаза и модул за осцилации); елипсометрия и AFM. Изтъкнато е предимството на комбинацията на DSA с метода за ТТФ (с промивна клетка), което позволява съчетаването на данните за монослой, с такива за слоеве на две фазови граници. Във втората част от обзора чрез анализирани на повърхностните и еластични свойства на слоевете от хидрофобин и предимствата му на стабилизатор е мотивиран избора му за обект в изследването. Представен е подробен анализ на изследванията, показващи неговите особености в обема (агрегация до димери, тетрамери и по-големи структури) и на повърхността, адхезионните му свойства, необратимата му адсорбция и силното еластично поведение на слоевете му. Представени са и реологичните модели, чрез които са описани данните за еластичността и вискозитета на преплъзване на смесен слой от хидрофобин и  $\beta$ -казеин. Подробно за представени изследванията чрез неутронно отражение и неутронно разсейване при малки ъгли, които показват, че конкурентната адсорбция на хидрофобина с нискомолекулните ПАВ зависи от фазовата граница (течна или твърда) и вида на ПАВ. В последната част от обзора са представени необичайните свойства на хидрофобиновите слоеве, наблюдавани с AFM и QCM (кварц кристал микробаланс) като втвърдяване, нагъване, нееднородност (области от кондензирана фаза и празнини) и цялостната му не компактна мезоскопска структура. В тези изследвания горните особености се свързват с действието на специфични молекулни взаимодействия, които са отговорни и за необичайно по-високата еластичност на слоевете му в сравнение с тази на други протеинови слоеве.

Представеният от мен анализ на литературния обзор показва, че той е много целенасочен и дава добра картина на методите и получените с тях резултати от изследванията на индивидуални или смесени протеинови слоеве. Прави впечатление, че анализиранията изследвания са проведени с много различни по състав смеси и с разнообразни, по принцип на действие, методи. Успешното им обобщение показва, че действително докторантът добре познава системите, методите и представените резултати. Дадената в обзора информация за свойствата на смесените адсорбционни слоеве, подпомагат дискусията на получените резултатите в Гл. 3, 4 и 5.

#### **4. Оценка на експерименталните методи**

Едно от достоинства на настоящата дисертация е, че представените резултати и изводи са получени чрез комбиниране на данни от няколко метода. В глава втора методите са систематизирани, както следва: метод за определяне на повърхностното напрежение (метод на деформираното мехурче); методи за повърхностна реология (осцилиращо деформирано мехурче и Лангмюрова вана); DSA метод със смяна на водната фаза за изследване на паралелна и последователна адсорбция; интерферометричен метод за изследване на тънки течни филми с използване на капилярна и промивна клетки и Атомно силова микроскопия. Теоретичната основа, принципът на действие, експерименталните условията и протоколът на измерването за всеки метод са представени кратко, но достатъчно систематично и последователно. Като експериментатор познавам тези методи и смятам, че те са подходящо подбрани за постигане на целта на изследването. Два от тези класически методи са модифицирани специално за проведените в дисертацията изследвания.

#### **5. Оценка на резултатите**

Дисертационният труд на Румяна Станимирова е едно добре балансирано съчетание от много силна експериментална част със силна теоретична. Това е позволило получените експериментални данни да бъдат количествено анализирани и като краен продукт да бъдат формулирани добре аргументирани модели и заключения.

За краткост на оценката на експерименталните данни ги систематизирам в четири групи:

- данни за повърхностното напрежение и модулите на разширение на индивидуалните и смесени адсорбционни слоеве, получени чрез паралелна или последователна адсорбция на фазовата граница вода – въздух;
- данни за дебелината и стабилността на пенни филми, образувани в промивна клетка при същите експериментални условия, при които са изследвани адсорбционните слоеве;
- данни за еластичността на разтечени слоеве от HFBI, получени от П(А) изотерми или чрез стъпково свиване на площта и осцилации между отделните етапи;
- данни за дебелината и структурата на разтечен HFBI слой при различни двумерни налягания, получени от AFM изображения;

Данните от първата група са получени чрез изследване на паралелната и последователна адсорбция от смесените разтвори на BSA и  $\beta$ -казеин (Таблица 3.1 и Фиг. 3.3 ) и HFBII и SDS (Таблица 4.2, 4.2, 4.3, 4.4 и Фиг. 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 ). Те са получени чрез метода DSA с модул за осцилации и модифицираната методика за смяна на водната фаза. По принцип експерименталната процедура на метода без замяна на водната фаза е трудна, защото трябва да се работи с мехурче с постоянен обем, така подбран, че то да се съхрани по време на осцилациите. Освен това трябва да се изключат всички външни фактори, които биха променили формата на мехурчето. Замяната на водната фаза усложнява с една степен сложността на експеримента, а многократната ѝ замяна (от 2 до 7 пъти в обсъжданите експерименти) го правят изключително сложен. Поради това оценявам високо получените данни, както и умението на докторанта да реализира тези експерименти. Тежестта им за реализация на целите в дисертацията е голяма, защото въз основа на тях са получени кумулативните криви, както и теоретичната оценка за взаимодействието между HFBII и SDS. Те се явяват базисната основа при създаване на моделите. Въз основа на данните от първата група са изказани следните аргументирани изводи:

- адсорбцията на  $\beta$ -казеина и BSA на фазовата граница вода- въздух е необратима;
- $\beta$ -казеиновите слоеве имат по-ниско повърхностно напрежение и модул на разширение от тези на BSA слоеве;
- при паралелна адсорбция адсорбционният слой е смесен, но неговите свойства преимуществено се определят от  $\beta$ -казеина;
- при последователната адсорбция свойствата и структурата на смесените адсорбционни слоеве зависят от реда на адсорбцията на съответния протеин: (i) ако BSA е адсорбиран първи, то  $\beta$ -казеиновите молекули проникват между BSA молекули, изцяло заемат фазовата граница и определят ниските стойности на повърхностното напрежение; (ii) ако  $\beta$ -казеина е адсорбиран първи, то BSA молекули се адсорбират върху него и повлияват както повърхностното напрежение, така и еластичността на слоя;
- адсорбция на HFBII е необратима; HFBII се адсорбира по-здраво на фазовата граница вода - въздух от BLG и BSA и при последователна адсорбция не може да бъде изместен от SDS, независимо от неговата концентрация;
- при паралелна адсорбция мястото (в обема или на повърхността) и състоянието (смесени хидрофилни агрегати от HFBII и SDS или адсорбиран HFBII) на хидрофобина се определя от концентрацията на SDS;
- смесените адсорбционни свойства от HFBII и SDS са с еластично поведение; ван дер Ваалсовата енергия на взаимодействие между HFBII и SDS в тях е 3.39 пъти по-голяма от тази между две SDS молекули;
- според получената кумулативна крива високата стойност на еластичността може да се дължи на фазов преход в адсорбционния слой или на присъствието на SDS

молекули, които допринасят за допълнително електростатично отблъскване между протеиновите агрегати.

Резултатите за пенните филмите (втора група) са важни, защото те са получени с новата flush клетка, с която също се реализира замяна на водната фаза и може да се изследва ролята на паралелната или последователна адсорбция върху филмовото поведение. В този дисертационен труд за първи път е направено едно системно изследване на пенни филми с такава клетка за двете протеинови смеси. Оценявам тези резултати като новаторски. Освен това тези резултати са триъгълния камък за успешното моделиране на структурата на адсорбционните слоеве при паралелна и последователна адсорбция. Това е направено чрез съпоставка на свойствата на адсорбционните слоеве, образувани на една повърхност, с дебелината и стабилността на филмите.

Третата група от резултати се отнасят за разтечени HFBI слоеве. Те са получени чрез експерименти с Лангмюрова вана при два режима на работа – непрекъснато свиване на слоя с постоянна скорост и стъпково свиване и провеждане на осцилации. Същественото, че тези експерименти са проведени при стойности на двумерното налягане по-високи от 25 mN/m, каквито са невъзможни с метода на мехурчето. Стойностите на еластичността на слоя, получени при непрекъснатото и стъпковото свиване са добре графично съпоставени и обстойно обсъдени. Чрез експериментите с осцилации на площта на слоя е потвърдено, че адсорбционният слой от HFBI има свойствата на еластично тяло. Силното повишение на еластичността при стъпковото свиване с провеждането на осцилации между отделните етапи се свързва с уплътняване и повърхностното преструктуриране на слоя в резултат от осцилациите. С данните от тази група не само се представят реологичните свойства на разтечен HFBI слой, но и се предоставя информация за двумерните налягания, при които трябва да се проведат изследванията с AFM.

Тези изследвания съм причислила към четвъртата група, която обединява експерименталните данни за дебелината и структурата на разтечен HFBI слой. Представени са изображения на слоя при различни двумерни налягания (от 25 до 62 mN/m) и към всяко едно от тях секционен анализ на дебелината на слоя за определен участък от изображението. Предложена е легенда за цвета на части от изображенията (тъмни петна – празнини, светли петна агрегати от HFBI) и корелацията им със състава и дебелината на слоя. Чрез нея изображенията на слой при различните двумерни налягания, изображението на компресиран и осцилиран слой, както и изображението на слой с област, издраскана до слюдената повърхност са подробно описани. Въз основа на тях е направен изводът, че при ниско двумерно налягане (25 mN/m) HFBI слой е нехомогенен, но с увеличаването на компресията (до 62 mN/m) се образува поплътен, зърнест слой. Изображението на компресиран и осцилиран слой показва наличието на области с дебелина на монослой и такива с дебелина на трислой. Въз основа на изображенията, теоретични съображения и експериментални данни за преход

от моно с мулти слоеве при липидите са предложени два механизма за прехода от монослой в три слой - чрез нагъване и подпъхване или чрез притискане и изтласкване на агрегати. Според литературата, AFM изображенията отдавна се използват за доказване на изместването на белтъци от фазовата граница чрез последователна адсорбция на нискомолекулни ПАВ (орогенен механизъм). Такава обоснована картина на мезоскопската структура на протеинов разтечен слой и промените в нея, при промяна на двумерното налягане и осцилиране на площта, обаче се дава за първи път. Новото е, че промените в структурата са подкрепени с впечатляващи механизми.

В заключение мога да кажа, че експерименталните резултати са получени с актуални методи и чрез сложни експериментални процедури. Тяхната достоверност е доказана. С горе представения от мен анализ удостоверявам високата си оценка за тях. Смятам, че начинът на представяне на експерименталните данни, използването и съчетаването им за извличане на стойностни изводи е доказателство за добрата експериментална работа и високата теоретична подготовка на дисертанта.

## **6. Оценка на приносите**

Съществените нови резултати, получени в дисертационния труд са систематизирани в три приноса. Те са изказани на базата на аргументирано-анализирани експериментални данни, получени чрез четири метода. Въз основа на някои експериментални данни са получени и нови, по теоретичен път, с които се обясняват намерените особености в реологичните свойства на изследваните смесени слоеве. Значимостта на приносите е безспорна и според мен тя се заключава в следното:

**Принос 1** обобщава резултатите от детайлното изследване на адсорбционните слоеве от двата, най-използвани в практиката, животински протеина - говежди серумен албумин (глобулярен протеин) и  $\beta$ -казеин (неструктуриран протеин). Достоинството му е, че той представя един нов подход за анализ на комбинирани данни, чрез който показва, че разликата в свойствата и структурата на изследваните протеинови адсорбционни слоеве зависи от реда на адсорбиране на компонентите. Този резултат е важен за практиката, защото би улеснил моделирането и контролирането на свойствата на пени и емулсии от протеини.

➤ **Принос 2** потвърждава приложимостта на използваните експериментални методи и подхода за анализа им към друга смес. Важността му се определя от новата информация за мястото (в обема или на повърхността) и състоянието (смесени хидрофилни агрегати от HFBI и SDS или адсорбиран HFBI) на хидрофобина в присъствието и концентрацията на SDS. Еднозначно е показано, че HFBI веднъж адсорбиран на фазовата граница вода-въздух не може да бъде изместен от SDS и че неговите смесени с SDS слоеве са с еластични свойства. Фактът, че смесеният адсорбционен слой притежава уникалните свойства на HFBI, означава, че изследваната двойка HFBI и SDS отговоря на критерия, поставен от практиката и е с потенциална приложимост.

➤ **Принос 3** представя връзката между мезоскопската структура на разтечен хидрофобинов слой и неговата еластичност. Приносът освен съществен теоретичен характер има и методичен, защото той демонстрира успешното обединение на резултатите, получени с Лангмюрова вана и тези с атомно силов микроскоп. Благодарение на данните за дебелината и структурата на слоя, при промяна на двумерното налягане или осцилации, се стига до извода за трансформацията в него (от моно в трислой), което пък инициира предлагането на механизми за нейното осъществяване.

## 7. Критични бележки, мнения и въпроси

Дисертационният труд е написан прецизно и е добре оформен. Незначителен брой технически грешки и пропуски са констатирани, което е неизбежно, отчитайки обема на работата и масива от експериментални данни. Долу привеждам някои от тях:

- правописни грешки на стр.12 (вместо HFBI повторено HFBIИ), стр.30 (от вместо до), стр.43 (клетка за извършване (замяна)....., стр.47 (изменените вместо изменението), 60 и 92 (дани вместо данни);
- на стр. 6 (BSA не е млечен белтък);
- на стр. 40 в уравн. 4.4, 4.5, 4.6  $\Gamma_4$  не е равно на 0;
- на стр. 26 и 38 се повтаря информацията за протеините;
- на стр. 27 не е мотивиран изборът на молните съотношения на  $\beta$ - казеина.

*Забележка:* Представените изследвания в дисертацията са проведени на фазовата раница вода-въздух, а в темата на дисертация е дадено „на различни междуфазови граници”

Тези пропуски по никакъв начин не намаляват достойнствата на работата. Становището ми за дисертационния труд е напълно положително. Представеният в него материал дори надвишава нужния за образователната и научна степен „доктор”. Позволявам си да изкажа някои *становища*:

1. На стр. 16 е представена третичната структура на BSA според Peters T. (1985). Според по-нови данни: J-H.Но J. Choi, S. Curry, D. Qin, R. Bittman, J.A. Hamilton, J Lipid Res. 43 (2002) 1000 или цитат 113 тя е актуализирана. BSA е с формата на сърце, с основа равноностранен триъгълник (8 nm) височина 3.8 nm. Показано е, че BSA има три хидрофобни области, наречени „джобове” или „кухини”, в които могат да се затварят хидрофобните части на други молекули. Това са местата, на които би могло да се осъществи и взаимодействие между BSA и  $\beta$ - казеина на повърхността или в обема на разтвора. Ако последното се реализира, то би се отразило на модела, предложен при паралелната адсорбция. Взаимодействието между двата белтъка може да се докаже чрез флуоресценция или динамично светлоразсейване.
2. Зарядите на BSA молекула не са дискутирани. Те са разпределени неравномерно върху домените ѝ. Според U. VoÈhme, U. Scheler, Chemical Physics Letters 435 (2007) 342 – 345 при pH = 6 молекулата е отрицателно заредена (5 заряда). Наличието на заряд ще препятства образуването на BSA/BSA агрегати. Това обяснява защо в



изследваните в дисертацията пенните филми не се наблюдава голямо количество от агрегати. Само наличието на заряд би позволило предлагането на моделите за смесените адсорбционни слоеве при паралелна адсорбция (Фиг. 3.5B) и последователна адсорбция (Фиг. 3.6 A). Ако BSA е без заряд в адсорбционния слой между молекулите му ще се осъществяват контакти и тогава  $\beta$  - казеина не би могъл да проникне (Фиг. 3.6 A). Допускането на заряда се подразбира от добавката на електролита за потискане на електростатичната стабилизация при изследваните филми. Поради изтъкнатите факти обсъждането на заряда би трябвало да се включи в литературния обзор.

3. В литературата има данни за получаване на стабилни черни филми от разтвори на BSA в изоелектричната точка му или в нейната околност. Стабилността им е свързана с еластичната деформация на слоевете при притискането им във филма, когато дебелината му е по-малка от удвоената им дебелина. Тези доводи ме карат да мисля, че разположението на албуминовите слоеве под  $\beta$  - казеина в  $\beta$  - казеин /BSA-овите филми (Модел Фиг. 3.6 Б) не е причината за филмовата дестабилизация. Обсъжданите филми се получават в отворена клетка. Те са в метастабилно състояние (образува се черно петно) и леко изпарение от филмовите повърхности би могло да причини скъсването.

## **8. Публикации, свързани с дисертацията**

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в **една глава** (от поредица Colloid and Interface Chemistry for Nanotechnology, Taylor & Francis, NY) и в **2 статии** в специализирани международни списания с Импакт фактор ( Langmuir, 4.186, Colloids & Surfaces A, 2.86)

Резултатите от дисертацията са представени чрез **4 доклада** и **3 постера** на **4 международни форума**, на **2 COST Workshop** и на **1 национална студентска конференция**. В две от публикациите Румяна Станимирова е първи автор. Тя е първи автор и на **два** от материалите, представени на научните конференции.

Становището ми е, че за дисертационен труд за придобиване на **образователната и научна степен „Доктор”** публикационната активност на дисертанта е **много добра**.

## **9. Заключение**

Документацията на Румяна Станимирова е съобразена с изискванията на ЗРАСРБ. Тя е била редовен докторант и е отчислена с право на защита до 01 .08. 2014.

Имала съм възможността да наблюдавам експерименталната работа на Румяна Станимирова и смятам, че в годините на своето обучение в бакалавърската, магистърска и докторска програми тя имаше шанса да работи с най-добрите специалисти в СУ по три от методите: DSA (доц. д-р Кръстанка Маринова), Атомно силова микроскопия (проф.дхн Константин Балашев) и ТТФ (химик Елка Башева). Това е позволило на Румяна Станимирова да получи една сериозна експериментална подготовка в годините на обучение си и определено смятам, че в момента тя е един от добрите експериментатори в Катедрата по инженерна химия. Проведеното от нея експериментално изследване в дисертацията доказва това. Румяна Станимирова използва уменията си на експериментатор и в учебната дейност на Катедрата по

Химично инженерство, като участва в провеждането на лабораторни упражнения към бакалавърски и магистърски курсове. Тя повишава подготовката си по колоидна и повърхностна химия като участва в 4 международни курса за студенти и в 1 национален. Румяна Станимирова показва добра работа в екип, тъй изследванията ѝ изискват сътрудничество с много колеги от лабораторията и чужбина. Активно участва и в работата на екипите, които работят по национални и международни проект.

Въз основа на положителната ми оценка за актуалността на темата, обосновката и важността на поставените задачи и изключително успешната им реализация, довела до съществени приноси в изследваната област, предлагам убедително на Уважаемото жури да оцени достойнствата на дисертационния труд и да присъди на Румяна Станимирова **образователната и научна степен „Доктор”** по научна специалност 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление: 4.2 Химически науки (Теоретична химия).

23.06.2014  
гр. Шумен

Подпис:  
/доц. д-р Жана Ангарска/